

KFDAによる生物材料を用いてのワクチンの生物学的応答の分析 (Vaccine Biologic Assay)。

AEFIの原因に応じた対応： それぞれの分類項目に応じた対応が行われる。

- 1) ワクチン反応 (Vaccine Reaction) - 副反応を惹起するワクチン使用の暫定的な停止。
- 2) プログラム上のエラー (Programmatic error) - ワクチン保存、準備方法、輸送、ワクチン接種における是正措置 (rectify) の実施。
- 3) 偶然 (Coincidental) - 公衆に対し、AEFIはワクチン接種に関連していないことを伝達。
- 4) 不明 (Unknown) - 追加の研究実施。
- 5) 注射による反応 (Injection Reaction) - 注射に対する心配から来る反応として対処。

#### (4) National Vaccine Injury Compensation Program (国家によるワクチン接種健康被害補償プログラム)

図9-1のようにまとめることが出来る。すなわち、補償に対する請求⇒健康被害に関する調査⇒因果関係の証明 (Causal relationship)⇒補償の決定 (韓国保健福祉大臣による)⇒ワクチン接種健康被害補償の実施。

また、図9-2に補償の流れを示すが、補償の申し立てから始まり、保健所による調査、16の大都市および州による調査(⇒調査チーム)、そしてKCDCによる調査(⇒補償調査チーム)、へと段階を上げ、最終的に保健福祉大臣への報告となる。因果関係が認められると判断された場合、補償の認定 (Award compensation) が決定され、結果がワクチンによる健康被害補償に関するアドバイザリー委員会 (Advisory Committee on Vaccine Injury Compensation) に報告される。KCDCによる補償調査チームからの情報も併せて報告される。

### Infectious Disease Prevention

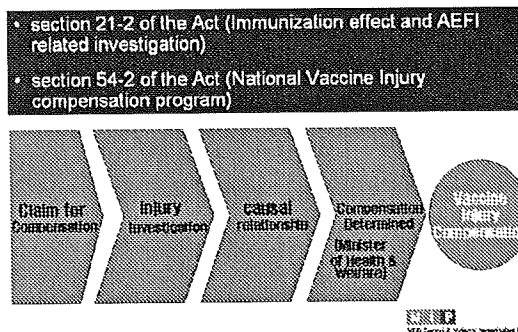


図9-1. 韓国ワクチン接種健康被害補償プログラム

### Compensation Procedure

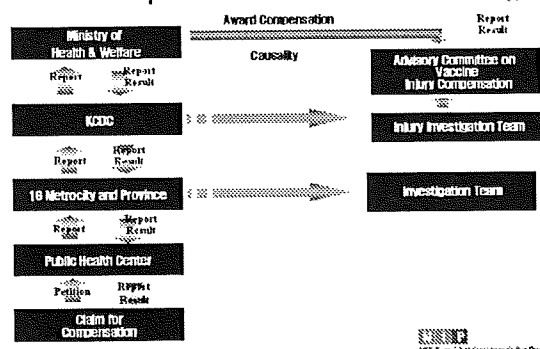


図9-2. 補償の流れ

韓国における予防接種と健康被害の因果関係 (Causality Assessment criteria) を評価する基準として、以下の分類が規定されていた。

- 1) 明らかな関連 (Definitely related, definite) : ワクチン接種に対して説得力のある時間的な関係を持った臨床的事象であり、同時に他の疾患や薬、化学物質によって説明することは出来ない。
- 2) 可能性の高い関連 (Probably related, probable) : ワクチン接種に対して合理的な時間的な関係を持った臨床的事象であり、同時に他の疾患やその他の薬物、他の化学物質に起因するものではなさそうである。
- 3) おそらくの可能性 (Possibly related, possible) : ワクチン接種に対しての合理的な時間的な関係を持った臨床的事象ではあるが、こ

れは同時期の疾患や他の薬物、その他の化学物質でも説明できるかもしれない。

4) おそらく関連していない (Probably not related, unlike): ワクチン接種に対しての時間的關係を持った臨床的事象としては因果關係の可能性はなく、基礎疾患や他の薬、その他の化学物質によるものとして説明できるかもしれない。

5) 間違いなく関連していない (Definitely not related): ワクチン接種に対して合致しえない時間的關係を持った臨床的事象であり、基礎疾患や他の薬、その他の化学物質で説明できる。(以上)

なお、上記に挙げる1)~5)のうち、1) definite caseから3) possible caseまでが補償支給の対象となり、4)についてはさらに精査、5) not related casesは対象にならない、と言う原則があるようである。

なお、韓国において実際にワクチン接種に起因するとして1994~2007年6月までの間に申し立てられた数、補償の数を図10-1に示す。さらに、図10-2には、その補償となった数の内訳を示す。

Year	Reported*	Filed	Compensated**	Dismissed	Pending
1994	10	-	-	-	-
1995	4	11	4	7	-
1996	3	4	1	3	-
1998	13	5	4	1	-
1999	6	2	1	1	-
2000	29	9	4	5	-
2001	141***	23	19	4	-
2002	22	15	13	2	-
2003	25	7	3	4	-
2004	45	7	5	1	1
2005	364	18	13	5	-
2006	635	23	15	8	-
2007.6	238	14	6	6	2
Total	1,533	138	58	47	3

\* : based on the reported date, \*\* : based on the compensated date  
 \*\*\* : 12.7 cases of 141 were reported to active surveillance for MR catch-up campaign in 2001

図10-1. 韓国におけるワクチン接種に対する請求および補償の数(+その結果)

Number of awards and compensation by years

Year	Number of Awards	Vaccine	Injury	Death	Compensation (unit won)
1995	4	JEV (2) JEV/others (2)	1	3	99,232,000
1996	1	JEV (1)	0	1	35,042,000
1998	4	DTaP/Polio (4)	3	1	155,263,000
1999	1	DTaP/Polio (1)	0	1	83,159,000
2000	4	DTaP (1) DTaP/Polio (3)	3	1	52,597,000
2001	18	JEV (1), DTaP (1); MR (16)	18	0	91,548,000
2002	14	MR (14)	14	0	9,412,000
2003	3	MR (2), JEV (1)	3	0	3,591,000
2004	5	Influenza (2), DTaP (1); JEV (1), HBV (1)	4	1	142,579,000
2005	13	DTaP (8), Others (5)	12	1	204,570,000
2006	15	Influenza (5), DTaP (5) Others (5)	15	0	42,100,000
2007.6	6	Influenza (3), BCG (1) DTaP/Polio (1), DTaP (1)	6	0	173,677,000
Total	88		79	6	1,095,782,000

図 10-2. 韓国におけるワクチン接種に対して行われた各年の補償数および内容

韓国において1995年から2007年6月までの間に行われた補償の数は88件(うち9件が死亡事例)であり、総額は1,096,782,000ウォンである。図10-2より、1件あたりの平均補償額を計算すると、約12,452,068韓国ウォンとなり、日本円では約984,684円となる。健康被害、死亡、それぞれの補償額の状況については、この表だけでは正確な値は不明であるが、死亡事例1例のみに対して補償が行われた1996年の日本脳炎ワクチンに起因すると考えられた事例に対しての36,043,000ウォン(日本円では2,850,208円)、1999年のDTaP/Polioワクチン(同時接種?)に起因すると考えられた事例に対しての83,159,000ウォン(日本円では6,576,046円)と、数千万円の開きがあった。また、健康被害のみに対する近年の補償額としては、2006年の15例(Influenza(5)、DTaP(5)、Others(5))においては一事例あたり約2,806,667ウォン(日本円では約221,946円)、2007年6月までの6例(Influenza(3)、BCG(1)、DTaP/Polio(1)、DTaP(1))においては、一事例あたり28,946,167ウォン(日本円では約2,289,005円)と、こちらも約2000万円の開きがあり、一様ではなかった。事例ごとの多様性・複雑性を示すものであると考えられる。2001年に副反応報告が多く行われた理由としては、この年

に行われた MR(麻疹風疹混合)ワクチンを用いた麻疹排除計画に基づく麻疹ワクチン接種キャンペーン下と言う背景がある。実際に最も多い副反応としての申し立ては、約 300 の BCG 接種後の副反応報告であり、外科的処置を要する BCG 後副反応に対して特に懸念があるようである。以下、聞き取りに基づく情報として、BCG によるリンパ節炎などに対する補償体制は額も決まっており、簡単とのことである。それ以外の予防接種副反応に対する補償が非常に複雑になっているようである。

## 2. 韓国における麻疹排除(主に聞き取り)

### (1) 韓国の麻疹排除の経緯

- －2001 年までは数年毎の流行があった。
- －2001 年の流行:約 55,696 例の麻疹症例(死亡 7 例)～うち 2 例の死亡は兄弟例であり、社会的なショックが著しく大きかった。
- －血清疫学調査(約 22,000 人を対象)の結果から、Susceptible rate: 5.3%(16 歳)－15.3%(7 歳)⇒これが、そのまま麻疹排除計画における MR ワクチン接種キャンペーン(2nd SIA)のターゲットとなった。
- －MR ワクチン接種キャンペーンに伴う、副反応のモニタリング体制が強化された。
- －国際的な活動のレビューを実施した(WHO, CDC, 国立感染症研究所(日本))。
- －MR ワクチン接種(2nd)証明として、小学校入学時の School entry requirement が実施されたが、実際には必須(mandatory)ではなかったとのことであった。これは、「ワクチン歴を小学校入学時(3 月 2 日など)に提出することが可能である」、と言う提言であった。
- －社会啓発の一方法として、バスの側面のコマーシャル掲載が挙げられる。

### (2) 韓国の麻疹排除に対する仕組み

#### 1) 麻疹排除計画～戦略面

##### (1) 国際的なネットワークの活用

世界保健機関(WHO)、米国CDC、国立感染症研究所(日本)

##### (2) 国内におけるネットワーク

- －韓国小児感染症学会(Korean Society of Pediatric Infectious Disease)の協力体制が確保された。
- －研究分野として、血清疫学の実施、ワクチン効果、疾病負荷、コストベネフィット解析、アウトブレイク対策の数理モデルの活用、などが挙げられる。
- －政府レベル・州レベルの麻疹排除委員会/実施グループ(タスクフォース)の組織化(これらは関連機関やNGOなどからなる)が行われた。
- －保健省と教育省および韓国医学会との連携が内部セクター同士で効果的に行われた。

以上(1)(2)の情報、麻疹排除に関わる活動の流れを流行曲線と共に示されたのが図11である。これらの中には、MRワクチン副反応のモニタリングに関する活動も含まれており、韓国におけるAEFI対応体制の強化のきっかけとなったとの情報も得ることが出来た。

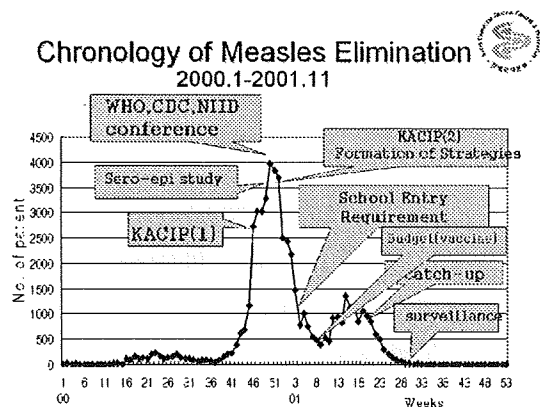


図11. 韓国における麻疹流行の進展および対応の流れ(2000年～2001年11月)

## D. 考察

韓国におけるAEFIに対する体制は、4つの大きな枠組み、すなわち迅速対応システム(rapid response system)、予防接種後副反応(AEFI)サーベイランスシステム、AEFI 調査チ

ーム、予防接種被害補償システム (Vaccine Injury Compensation System)、が明確に規定され、対応が行えるように整備されていた。

迅速対応システムの詳細として、AEFI疑い事例に対する調査の開始や当該ロット接種者への前向きなサーベイランス実施などのタイミング、当該ワクチンの一時的な接種差し止めなどの対応実施についての目安が明確であることは、韓国におけるAEFIへの迅速対応の内容が明確であることはわが国における体制強化の上でも非常に参考になるものである。

また、AEFI サーベイランスからの報告として、これらの報告は2005年より増加しており、特にインターネットによる報告システムの導入以降著しいことが分かった。これは、保健所に加え、保護者等による参加が始まったことを受けてのものと考えられる。インターネットをベースにした情報の、保健所・保護者による入力システム・警報発信(アラート)システム・特定のワクチンロットに関する情報発信システムなどはわが国には無い体制であり、個人それぞれがID番号によって認識あるいは認証サイトを持つことが出来る、国民皆背番号制という背景が大きいと考えられる。また、ワクチンやAEFIに対する国民の理解は原則的に得られていると考えられた。しかしながら、現在のワクチン受容に関する国民の状況が長期的なものとして維持されるかどうかは、今後の韓国内における種々の体制がさらに強化されていくことが前提として、危機感を持って捉えられていた。KCDC内のワクチン担当部署(NIP)においては、2名ものメッセージの発信に関する担当者があり、韓国における有効なリスクコミュニケーションを行なっていこうという戦略が窺われた。これらは日本国として大いに見習う点である。調査体制については、迅速な疫学調査を実地疫学研修者(日本におけるFETP:実地疫学専門家陽性コース研修者、にあたる者)も交えて行うことは、AEFIが「アウトブレイク」の事象とし

て認識され、対応されていることを示すもので、疫学的・科学的に正しい対応であると考えられる。わが国では、AEFIの発生をタブー視し、特殊なものとして心情的に捉えるあまり、必要な疫学的・科学的対応が遅れるような現状が無いのか、検証が必要である。これらの疑わしい事例の発生時に、FETPの活用などを行うことは、韓国においても述べられている通り、事例に対する迅速な対応のみならず、教育・訓練の場としても重要であると考えられる。また、バイオアッセイについても、KFDAなど実施する場所が規定されているなどの点が非常に参考となる情報である。それらのアセスメントを行ったうえで、事例を明確に、ワクチン反応(Vaccine Reaction)、プログラム上のエラー(Programmatic error)、偶然(Coincidental)、不明(Unknown)、注射による反応(Injection Reaction)、と言う国際的にも多く用いられている分類に乗って結論付け、そして国民に対して明確なメッセージを発していくことが重要である。

韓国における補償体制については、予防接種と健康被害の因果関係などを評価する基準などが、原則的にわが国のシステムと似通った点が多いのではないかと考えられた。しかしながら、韓国における補償システムの明確さから学ぶ点が多いのではないかと思われる。また、推定された補償額の多様性を見ると、韓国内においても、個々の事例で状況がずいぶん異なるようであり、実際には事例を一般化出来るものではなく、困難さに多々直面していることが示唆される。補償などの体制充実に加え、国民向けのリスクコミュニケーションを強化する重要さがここにもある。

韓国における麻疹排除活動については、2001年の麻疹流行を国家として対応すべき重大な事例と位置づけ、接種活動や啓発などを行っていった韓国の状況が示唆された。2001年にかけては、日本国内でも韓国をはるかに上回る流行が発生していたにも関わらず、

2007年11月に麻疹排除を宣言した韓国と、2001年以降にも国内での重症者が多数発生(死亡者もあり)していた日本国内の状況との差は、わが国の麻疹に関わる者全てが良く認識し、反省すべき点かもしれない。

韓国における麻疹排除活動の特徴として、ロードマップを整え、副反応モニタリング体制を含む、国内外の大枠を整えていったことは重要であると考えられた。特に国際的な活動のレビューを実施したことは、活動の妥当性・有効性などを検証する上で重要であったと考えられる。この一連のレビューアーには国立感染症研究所も含まれている。小学校入学時のSchool entry requirementの実施について、実際には必須(mandatory)ではなかったということは意外であったが、ここにもリスクコミュニケーションの成功があったと考えられた。

#### E. 結論

本研究班において現在構築中の予防接種後副反応報告と同被害救済申請に関する電子化システムに資するために、海外で特に先進とされる韓国におけるAEFIに対応する枠組み、基本的なデータについて、KCDCを訪問し、担当者より情報を収集した。4つの枠組みである迅速対応体制、AEFIサーベイランス体制、調査体制、補償体制、のそれぞれについて、韓国においては目的や体制が明確に規定されており、疫学的・科学的にも適切に対応していることとする基盤が感じられた。補償額の多様さなどから、事例ごとの対応が一律ではなく、苦慮している現状も示唆された。麻疹排除を先に達成した韓国の状況からは、副反応モニタリングを含む、大きな枠組みやロードマップを整備して対応した状況があったことが分かった。海外における予防接種後健康被害事例に関する情報は、今後も継続的に収集し、わが国の体制構築に生かしていくことが重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表(著書を含む)

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

平成 21 年度 厚生労働科学研究補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
予防接種後健康被害審査の効率化に関する研究

米国における予防接種後副反応事例報告の収集  
~2008 年、2009 年 VAERS に関わる文献情報~

研究分担者 山本 久美 (国立感染症研究所 感染症情報センター)

研究要旨 現在、本研究班においては、予防接種後副反応報告と健康被害救済申請に関して電子化すべく、システムの構築を行っているところである。今回、米国における VAERS (Vaccine Adverse Event Reporting System : 米国の予防接種副反応における受け身のサーベイランスシステム) に関連して報告された文献情報を検索し、情報収集することで、我が国で構築中のシステムの充実、およびそのシステムの将来的な運用の発展に資することを目的とした。2008 年および 2009 年の 2 年間に PubMed において掲載された論文のうち、“VAERS” を含むものを検索し、閲覧・情報収集を行ったところ、2008 年 5 報、2009 年 5 報の合計 10 報が公開されていた。いずれも米国における予防接種政策上、検討することが必要な、非常に重要な内容であると考えられた。本研究班において現在開発中のシステムは、VAERS に類似したシステムと考えられ、報告されたデータを電子的に蓄積し、ウェブサイト等を通じて、定期的にかつ迅速に情報を還元する、あるいは論文として発表する等、国内のみならず国外に向けても情報を発信することが可能である。このことは、学術的な観点からのみでなく、予防接種副反応に関する情報の透明性を確保する意味で、現段階で進んでいる予防接種法の改正や新規ワクチンの開発・導入に鑑みても、本システムの開発・導入は、我が国の予防接種政策上、必要不可欠なものであると考えられる。

#### A. 研究目的

現在、我が国において定期接種後の健康被害を把握する方法には、主に、健康被害発生時に接種者、保護者、主治医等が提出する予防接種後副反応報告と、**sampling** された一部の被接種者に対して **prospective** に健康状況を観察し、はがきで報告を得る予防接種後健康状況調査の二つの **surveillance** に加えて、予防接種健康被害救済制度に基づき、医療費や障害年金等の支給を求める申請から得られる三つがある。

一方、米国では図 1 に示すようなサーベイランス体制で、予防接種後副反応事例の収集を行い、定期的にウェブサイトを通じて情報を還元するだけでなく、論文等としても発表

している。中でも VAERS (Vaccine Adverse Event Reporting System) は、1990 年に米国 CDC と FDA の統合管理下に設立された **Passive surveillance system** で、全てのワクチン接種後副反応に関して報告可能なシステムである。①過去に知られていなかった新たな、異常な、まれな副反応の検出、②既知の副反応のモニタリング、③ある特定の副反応におけるリスク因子の同定、④ある特定の、あるいは報告が増加傾向にある副反応を示すワクチンロットの検出、⑤新しいワクチンの安全性に関するアセスメント等を目的としている。医師、患者、親、介護者等、誰が報告しても良いことになっており、**Vaccine failure** やワクチン誤接種も報告が可能である。しか

しながら、すべて受け身的な報告であるため、ワクチンとの因果関係・証拠を必ずしも示すものではない。報告は、郵送、fax、web-based で受け付けられ、VAERS database に入力した後、週ごとに集計され、個人情報を除いて、web にて随時公開される。さらに、Surveillance Summary としても MMWR 等を通じて、あるいは学術論文として公表される。

この VAERS への報告体制は、我が国の予防接種後副反応報告と類似しており、現在、電子化を進めている本報告の将来的な運用において、非常に示唆に富むものである。今回、この VAERS に関連して報告された文献情報を検索し、情報収集することで、我が国で構築中のシステムの充実、およびそのシステムの将来的な運用の発展に資することを目的とした。

## B. 研究方法

2008 年および 2009 年の 2 年間に PubMed(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>)において掲載された論文のうち、“VAERS”を含むものを検索し、閲覧・情報収集を行った。

(倫理面への配慮について)

本検討は、被接種者や健康被害救済申請者等に関する個人情報は扱わないため、倫理委員会等による承認を必要とするものではない。

## C. 研究結果

### 1. 2008 年

2008 年は、下記の 5 報であった。

- (1) Soju C, et al. Elective termination of pregnancy after vaccination, VAERS: 1990-2006. Vaccine 2008; 26: 2428-2432

1990 年から 2006 年までに、VAERS に報告されたもののうち、選択的妊娠中絶 (Elective termination of pregnancy: ETP) の報告をレビューした後、記述したもので、同期間に 80 例(年齢中央値 26 歳: 13 歳-43 歳)の報告があったとしている。48 例(60%) : 接種時に妊娠に気づいていなかった、15 例(19%) : 接種後 3 カ月以内に妊娠した、13 例(13%) : 接種する前に妊娠していた可能性があった、4 例(5%) : 情報不明、という内訳であった。ワクチンの種類としては、水痘 29(36%)、MMR25(31%)、B 型肝炎 10(13%)等となっていた。妊婦に対する生ワクチンの接種においては、理論上のリスクは言われているが、実際に胎児に影響が見られたという文献はないとし、今後も継続的な VAERS への報告の必要性と、経過観察の重要性を訴えていた。

- (2) Sandra SC, et al. Safety of varicella vaccine after licensure, VAERS: 1995-2005. JID 2008: 197(Suppl 2)

米国では、1995 年から 2005 年の間に、47,733,950 本の水痘ワクチンが出荷され、25,306 件(10 万接種あたり 52.7 件)の副反応が VAERS に報告され、そのうち重篤と考えられるものは 1,276 件(5%、10 万接種あたり 2.6 件)であったとしている。総じて、水痘ワクチン接種後の副反応はまれであり、ワクチン接種の利点の方が相対的に大きいと結論付けられていた。

- (3) Armenak A, et al. Live attenuated measles and mumps vaccine and hearing loss: VAERS: 1990-2003. Vaccine 2008; 26: 1166-1172

1990 年から 2003 年に VAERS に報告された、および科学的な文献に報告された measles and/or mumps viral strain

containing vaccine (MMCV)接種後の難聴に関するレビューを行い、記述すること、および reporting rate(RR)を求めることを目的としたもので、同期間に 11 例の文献的報告と、44 例の VAERS への報告があったとしている。RR は、600-800 万接種に 1 例と考えられたが、因果関係については今後の検討・調査が必要であるとされた。

(4) Syncope after vaccination, VAERS: 2005-2007. MMWR, May 2, 2008, Vol.57/No.17. 457-460

米国では、2005年1月1日から2007年7月31日までに463例のワクチン接種後失神の報告があり、2002年から2004年の報告が203例であったのに対して増加していた。2004年以降の傾向で見ると、2006年6月29日以降の子宮頸癌ワクチン(HPVワクチン)接種開始後、11歳から15歳の女兒における報告が明らかに増加している傾向があった。接種後少なくとも15分間は接種した場所で経過観察をすること等、ワクチン接種後失神とそれに関連する外傷を予防する recommendation を Box の形で示していた。

(5) Penina H, et al. Postlicensure monitoring of intussusceptions after RotaTeq in the United States, February 1, 2006, to September 25, 2007. Pediatrics. 2008; 121(6): 1206-1212

1999年にRotaShield<sup>®</sup>に関連する腸閉塞が問題となって当該ワクチンが市場から回収された事例を踏まえて、2006年に新たに発売されたRotaTeq<sup>®</sup>の腸閉塞に関連するリスクの評価をVAERSの報告と、VSD(Vaccine Safety Datalink: 図1参照)に登録されている医療機関でのコホート研究から総合的に実施した

ものである。VAERSに関連しては、2006年2月1日から2007年9月25日に報告されたRotaTeq<sup>®</sup>接種後の副反応報告1,901件のうち、腸閉塞の報告は160件であり、47件(29%)が接種後1-21日以内に、うち27件(17%)が接種後1-7日以内に発生していた。VAERSへの報告完遂率を75%、出荷されたRotaTeq<sup>®</sup>の75%が投与されたとしたときのRotaTeq<sup>®</sup>投与における腸閉塞のリスク比は、投与後1-21日以内に発生するのが0.53、投与後1-7日以内に発生するのが0.91であり、VSDからの検討も併せて判断すると、RotaTeq<sup>®</sup>投与と腸閉塞の発生に関連性は見なれなかったとされていた。

2. 2009年

2009年も以下5報であった。

(1) Barbara AS, et al. Human papillomavirus vaccine safety in pediatric patients: an evaluation of the vaccine adverse event reporting system. JAMA 2009; 302(7): 750-757

米国において2006年6月に11-12歳の女兒を対象に定期接種として導入された4価HPVワクチンのVAERSへの報告をまとめたものである。2006年6月1日から2008年12月31日にかけて、12,424件(10万接種あたり53.9件)の報告があり、重篤なものは32件の死亡を含む772件(全報告数の6.2%)であり、副反応の内容と10万接種あたりの割合がTableとして表示されていた。全体的にこれまでの他のワクチン接種と比較して、突出した事項はないものの、VAERSの特徴である受け身のサーベイランスということから未報告の症例もある可能性も踏まえて継続的に監視していく



としている。

- (2) Melissa R, et al. Serious adverse events rarely reported after trivalent inactivated influenza vaccine (TIV) in children 6-23 months of age. *Vaccine* 2009; 27: 4278-4283

米国で2003年10月以降、6-23ヶ月の全ての児に推奨されている不活化季節性インフルエンザワクチンに関するVAERSへの報告のまとめである。2003年7月1日から2006年6月30日までに報告された重篤なものは104例で、主なものとして発熱52例、けいれん35例であった。ワクチンとの因果関係は明らかではないものの、これまでと比較しても新しいものや想定外のものはないとされていた。

- (3) Manette TN, et al. Adverse events after anthrax vaccination reported to the vaccine adverse event reporting system (VAERS), 1990-2007. *Vaccine* 2009; 27: 290-297

炭疽菌に対するワクチン接種実施後のVAERSにおける副反応報告に関して、1990年1月1日から2007年1月16日までに4,753件の報告があったとのことであった。非重症例4,273件(90%)、重症例455件(9.6%)、死亡例25件(0.5%)の内訳で、死亡例・重症例を含めて、ワクチン接種との因果関係が明確に認められるものはなかったとしている。

- (4) Wei H, et al. Kawasaki disease after vaccination: reports to the vaccine adverse event reporting system 1990-2007. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 29(11):943-947

ロタウイルスワクチン(RotaTaq<sup>®</sup>)接種後の川崎病発症のリスクが、プラセボ投与群に比較して高い可能性があること

の検討に対し、米国で認可されているすべてのワクチンにおいて、接種後の川崎病発症としてVAERSに報告されたもののレビューであった。1990年から2004年までに、VAERSには107例の川崎病の報告があり、DtaP, hepB, IPVの混合ワクチンであるPediatrx<sup>®</sup>接種後が10万person-yearsあたり0.59、RotaTaq<sup>®</sup>接種後が10万person-yearsあたり1.47であり、一般的な米国5歳未満児における川崎病の発症率が10万person-yearsあたり9-19ということから、ワクチン接種後の川崎病発生の危険性の増加は認められないとされていた。

- (5) Nancy LB, et al. Postlicensure safety surveillance for quadrivalent human papillomavirus recombinant vaccine. *Ann Pharmacother* 2009; 43(2): 356-359

米国におけるHPVワクチン接種後のVAERSへの副反応報告が、3,174件(年齢6-17歳)であり、191件(6%)が重症と考えられるとされていた。

#### D. 考察

2008年と2009年を併せると、米国におけるVAERSのデータを用いた報告は合計10報見られた。VAERSにおいては、学術論文としての報告だけでなく、週報のように継続して情報を公開・還元している。それらのデータは、情報の適切な公開という観点から、米国の予防接種政策を適切に運用するにあたり非常に重要な役割を担っており、学術研究にも有用かつ重要なデータの提供のみならず、公衆衛生上でも非常に重要なものとなっている。今回、レビューした10報はいずれも近年の米国の予防接種政策上、非常に重要性の高いトピックスである。こういった情報を速やかに提供できるような背景としてVAERSをはじめとする図1に示すような予防接種副

反応サーベイランスと、疑わしい事象が発生した際に検証することを前提としたネットワークが確立されていることが大きく影響していると考えられる。

我が国において、現在開発中の副反応報告におけるシステムは、ウェブベースではないものの、報告されたデータを電子的に蓄積することが可能であり、表やグラフ等の作成が容易なものとなるという利点がある。この機能を有効活用することにより、以前にもまして、公衆衛生上重要な情報を、ウェブサイト等を通じて、適切にかつ迅速に公開・還元することが可能となり、我が国における予防接種副反応サーベイランスがより円滑に運用できるようになると考える。それら蓄積されたデータを定期的にまとめ、論文として公開することが可能となれば、国内のみならず、海外諸国に対しても有用な情報発信も可能になると考えられる。

我が国における VAERS に類似したシステムを確立することは、予防接種副反応に関する情報の透明性を確保する意味で、現段階で進んでいる予防接種法の改正や新規ワクチンの開発・導入に鑑みても、必要不可欠なものであると考える。

## E. 結論

米国において、VAERS に関連して報告された文献情報を検索し、情報収集することで、我が国で構築中のシステムの充実、およびそのシステムの将来的な運用の発展に資することを目的とした。米国における VAERS に関連しては 2008 年 5 報、2009 年 5 報の合計 10 報の報告がなされており、いずれも米国における予防接種政策上、非常に重要な内容であると考えられた。本研究班において現在開発中のシステムは、VAERS に類似したシステムと考えられ、報告されたデータを電子的に蓄積し、ウェブサイト等を通じて、定

期的かつ迅速に情報を還元する、あるいは論文として情報を公開することが可能であり、学術的な観点からだけでなく、現段階で進んでいる予防接種法の改正や新規ワクチンの開発・導入に鑑みても、本システムの開発・導入は我が国の予防接種政策上、必要不可欠なものであると考える。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表（著書を含む）

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

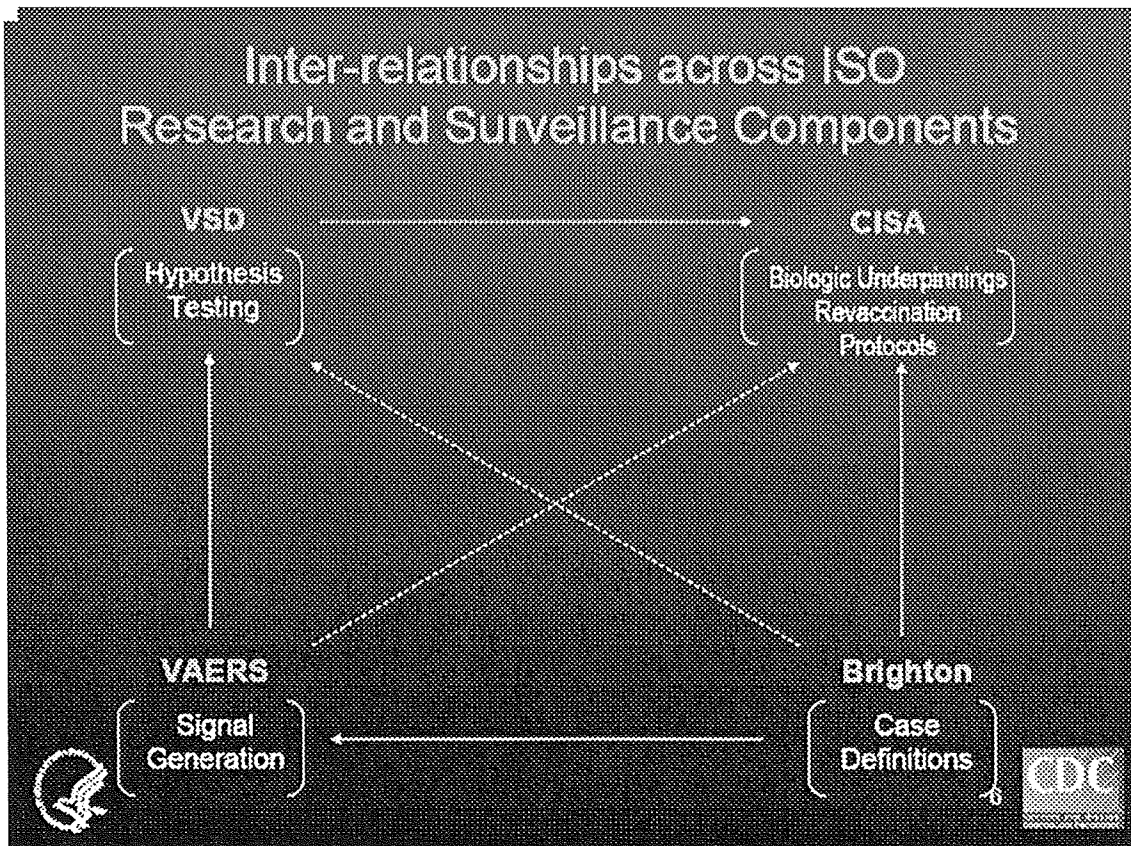
### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

図 1. 米国における予防接種後副反応事例収集に関わるサーベイランス体制



厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

予防接種後健康被害ならびに予防接種後副反応報告と  
ワクチン製剤の成分ならびにその性状に関する研究

研究分担者 落合 雅樹（国立感染症研究所・検定検査品質保証室 主任研究官）  
研究協力者 山本 明彦（国立感染症研究所・細菌第二部 主任研究官）  
内藤誠之郎（国立感染症研究所・検定検査品質保証室 主任研究官）  
片岡 紀代（国立感染症研究所・検定検査品質保証室）  
堀内 善信（独立行政法人 医薬品医療機器総合機構）

研究要旨

精製百日せきワクチン中の残存百日咳毒素活性を検出するマウスヒスタミン増感試験の代替法として、百日咳毒素-A サブユニットのADP リボシル化活性およびB サブユニットのレクチン様（Binding）活性を測定する *in vitro* 試験法について検討した。これらの *in vitro* 試験法により DTaP ワクチンのADP リボシル化活性およびBinding 活性の測定が可能であった。

マウスモデルにおいて追加接種時の局所反応原性が初回接種時の百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感活性（残存百日咳毒素活性）と相関する結果が得られており、百日咳毒素-A サブユニットのADP リボシル化活性およびB サブユニットのBinding 活性を別々に測定することが可能となり、追加接種時の局所反応原性と百日咳毒素のいずれの活性が強い相関を示すか評価することで、詳細なワクチン側の局所反応因子が明らかになっていくことが期待される。

A. 研究目的

国際的に動物福祉や倫理上の観点から、動物試験の代替法に関する研究が精力的に進められている（3R's）。マウスヒスタミン増感試験は、1981年の沈降精製百日せきワクチン実用化に伴い、百日咳毒素の残存活性を高感度に検出するための試験法として生物学的製剤基準に採用された。国内では直腸体温測定に基づく定量試験法が用いられており、信頼性の高い試験結果が得られている。

一方、国際的にはマウスヒスタミン死を指標とした試験が実施されており、マウスの感受性の違い等により試験結果が影響され、試験間あるいは施設間のバラツキが非常に大きく、その信頼性が問題とされている。また、多数の動物を必要とする試験であることから感度・精度に優れた *in vitro* 試験法の確立が望まれている。そこで新規 *in vitro* 試験法として百日咳毒素-A サブユニ

ットのADP リボシル化活性およびB サブユニットのレクチン様（Binding）活性（図1）を測定する *in vitro* 試験法について検討した。百日咳毒素の詳細な毒性因子と予防接種後健康被害ならびに予防接種後副反応の関連性評価を進展させるためにも、こうした試験法の開発は有用と考えられる。

B. 研究方法

1. 百日咳毒素及びワクチン

本研究では、百日咳毒素参照品（NIBSC, 90/518）および国内外から入手した沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン（DTaP）または沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン（DTaP-IPV）を用いた。

2. ADP リボシル化活性測定

卵白アルブミン溶液（OVS: 2.0 mg/mL）で溶解した20  $\mu$ Lの百日咳毒素参照品及び試験品に5  $\mu$ Lの活性化バッファー（200 mM

Dithiothreitol) を加えて 20-30 分室温でインキュベートした。その後、10  $\mu$ L のリボシル化試薬 (20 mM 4-(2-Aminoethyl) benzenesulfonyl fluoride、1.5 mg/mL Lysophosphatidylcholine および 18 mM ATP、3 mM NAD を使用直前に 1 : 2 の割合で混合し、1 分間室温で超音波処理する) を加えて混合し、30 分間 4-8°C でインキュベートした。5  $\mu$ L の蛍光標識基質 (HCAM-2, 資料 1) を加えて混合し、6 時間遮光下室温で反応させた。反応は、40  $\mu$ L の DMSO/0.25M  $\text{NH}_4\text{OH}$  (v/v, 1/1) を加え停止した。反応停止後、HPLC による分析まで、サンプルは -20°C で保存した。HPLC による分析は、逆相 HPLC カラム (Shodex Asahipak, ODP40-4E: 4  $\mu$ m, 4.6 mm  $\times$  250 mm) を接続した蛍光検出器 (励起波長: 495 nm、検出波長: 515 nm) を用いた。移動相には溶媒 A (10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , pH 8.5, 80% アセトニトリル) および溶媒 B (10mM  $\text{NH}_4\text{OAc}$ , pH 8.5) を用い、流速 0.8 mL/min、溶媒 B%: 75% (0-1 min); 75-70% (1-2 min); 70% (2-6 min); 70-0% (6-8 min); 0% (8-9 min); 0-75% (9-11 min); and 75% (11-20 min) のグラジエント条件で分析を行った (図 2 : クロマトグラム)。サンプルは 5,000  $\times$  g で 2 分間遠心し後、HPLC 分析に用いた。

試験品の APD リボシル化活性は、百日咳毒素参照品 (100-400 ng/mL) の相対活性として算出した。

### 3. Binding 活性測定

96-well ELISA 用プレート (Nunc maxisorp) を Carbonate buffer (pH 9.5) に溶解した 100  $\mu$ L/well の糖タンパク (10  $\mu$ g/mL Fetuin 又は Asialofetuin) を加え室温で一晩コーティングした。プレートを、Wash buffer (PBST: PBS-0.05% Tween 20) で洗浄後、PBST に溶解した 3% BSA (Blocking buffer) を 100  $\mu$ L/well 加え室温で 1 時間ブロッキングした。Wash buffer でプレートを洗浄後、Blocking buffer で 2 倍段階希釈した百日咳毒素参照品および脱着処理した試験サンプルを 100  $\mu$ L/well 加え室温で 2 時間インキュベートした。Wash buffer でプレ

ートを洗浄後、Blocking buffer で 1/50,000 に希釈した抗百日咳毒素抗体 (NIBSC, 97/572) を 100  $\mu$ L/well 加え室温で 90 分間インキュベートした。Wash buffer でプレートを洗浄後、Blocking buffer で 1/1,000 に希釈した抗ヒツジ IgG-PRD 標識抗体 (Sigma, A3415) を 100  $\mu$ L/well 加え室温で 90 分間インキュベートした。Wash buffer でプレートを洗浄後、SIGMAFAST™ OPD (Sigma, P9187) を 100  $\mu$ L/well 加え室温暗所で 15-20 分間発色させ、50  $\mu$ L/well の 3M HCl を加えて発色を停止し、直ちに 492 nm の吸光度を測定した。

試験品 (ワクチン) は、プレートのコーティングと併行して抗原のアルミニウムアジュバントゲルからの脱着処理を実施した。試験品と等量の 3 mM EDTA を混合し、37°C で一晩振とう (200 回転/min) 処理した。脱着処理後 10 分間遠心し、その上清を活性測定に直ちに用いた。試験品の Binding 活性は、百日咳毒素参照品の相対活性として算出した。

(倫理面への配慮)

本研究において、実験動物を必要とする測定等は実施していない。

## C. 研究結果

### 1. ADP リボシル化活性測定

ADP リボシル化活性測定へのアルミニウムアジュバントゲルの影響を評価するため、試験品と同程度のアルミニウムアジュバントゲル濃度の溶液で溶解、希釈した百日咳毒素参照品の ADP リボシル化活性を測定した。アルミニウムアジュバントゲルとして水酸化アルミニウムゲル及びリン酸アルミニウムゲルを用いた。水酸化アルミニウムゲル及びリン酸アルミニウムゲル液中の ADP リボシル化活性は OVS に溶解した百日咳毒素参照品のそれぞれ 51.6  $\pm$  4.9%、62.1  $\pm$  5.0% (平均  $\pm$  標準偏差) であった (図 3)。したがって、試験品の ADP リボシル化活性は、試験品に含まれるアルミニウムアジュバントゲルに溶解した百日咳毒素参照品に対する相対活性として算出することにした。それぞれ製造所の異なる 4 ロットのワクチン (試験品 A, B, D : 水酸化ア

ルミニウムゲル、試験品 C：リン酸アルミニウムゲル、試験品 D は組換え技術により ADP リボシル化活性を欠く百日咳毒素を含有)の ADP リボシル化活性を測定した結果、試験品 B,C は同程度の活性、試験品 A はこれらより低い活性を示した(図 4)。試験品 D は、本法により ADP リボシル化活性は検出されず妥当な結果が得られた。

## 2. Binding 活性測定

ADP リボシル化活性測定に用いたワクチンと同一の試験品(4種類)の Binding 活性を測定した。Binding 活性においては、百日咳毒素抗原をアルミニウムアジュバントゲルから脱着処理した後に活性を測定する必要があるため、脱着処理後の上清中の ADP リボシル化活性と無処理の試験品の ADP リボシル化活性から百日咳毒素抗原の脱着率を算出した。脱着処理後の上清中の Binding 活性を脱着率で補正し、試験品の Binding 活性とした(表 1)。ただし試験品 D は、ADP リボシル化活性を欠くため脱着率の評価ができなかった。試験品 D の Binding 活性は、他の試験品に比較して高い活性を示した。これは、試験品 D に含まれる百日咳毒素抗原は組み換え技術により百日咳毒素の A サブユニットの活性を欠くことから、通常の百日咳毒素の不活化処理とは異なり、抗原の安定化を目的としたマイルドな化学処理が実施されているため、強い Binding 活性が残存していたと推測できる。試験品 C は、Fetuin, Asialofetuin いずれの糖タンパクに対しても試験品の中で最も低い Binding 活性を示した。試験品 A では、Asialofetuin に対する高い Binding 活性が見られた。

## D. 考察

精製百日せきワクチン中の百日咳毒素の残存活性を検出する *in vitro* 試験法として、百日咳毒素-A サブユニットの ADP リボシル化活性および B サブユニットのレクチン様 (Binding) 活性の測定法について検討した。ADP リボシル化活性の測定においては、アルミニウムアジュバントゲル(水酸化アルミニウムゲル及びリン酸アルミニウムゲル)の存在下で百日咳毒素の ADP リボシル

化活性は測定可能であったが、約 50-60 % に阻害されて測定されることが明らかとなり、ワクチン中の ADP リボシル化活性は、試験品に含まれるアルミニウムアジュバントゲルに溶解した百日咳毒素参照品に対する相対活性として算出することにした。

Binding 活性の測定においては、百日咳毒素抗原をアルミニウムアジュバントゲルから脱着処理した後に活性を測定する必要があるため、脱着処理後の上清中の ADP リボシル化活性と無処理の試験品の ADP リボシル化活性から百日咳毒素抗原の脱着率を算出したところ、本研究で用いた EDTA による脱着処理法では抗原の脱着率は約 20-30 % であり脱着効率の向上が今後の課題と考えられた。

これらの *in vitro* 試験法により、それぞれ製造所の異なる 4 ロットのワクチンの ADP リボシル化活性および Binding 活性を測定した。試験品 D として組換え技術により ADP リボシル化活性を欠く百日咳毒素を含有するワクチンを用いた。試験品 D の ADP リボシル化活性は、本法により検出されなかった。一方、Binding 活性においては、試験品 D は他の試験品に比較して非常に高い活性を示したが、これは試験品 D が ADP リボシル化活性を欠くため、通常の百日咳毒素の不活化処理とは異なり、抗原の安定化を目的としたマイルドな化学処理が実施されているためと考えられる。試験品 D を用いることで、これらの *in vitro* 試験法により得られた結果の妥当性を検証することができた。試験品 A,B,C の ADP リボシル化活性および Binding 活性の間には相関が認められず(図 5)、製造所毎の不活化処理法の違い等により A サブユニットおよび B サブユニットの不活化程度に違いがあると考えられた。

今後は、マウスヒスタミン増感試験とこれらの活性の相関について評価する。国際的に動物福祉や倫理上の観点から動物試験の代替が精力的に進められているが、動物試験を *in vitro* 試験法に代替する際は、その妥当性および限界を十分に評価することが重要である。

マウスモデルにおいて追加接種時の局所反応原性が初回接種時の百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感活性と相関する結果が得られている(図6)。百日咳毒素の残存活性を検出する試験法として、百日咳毒素のADP リボシル化活性および Binding 活性を別々に測定することが可能となり、追加接種時の局所反応原性と百日咳毒素のいずれの活性が強い相関を示すか評価することで、詳細なワクチン側の局所反応因子が明らかになっていくことが期待される。

#### E. 結論

精製百日せきワクチン中の残存百日咳毒素活性を検出するマウスヒスタミン増感試験の代替法として、百日咳毒素-A サブユニットのADP リボシル化活性および B サブユニットのレクチン様 (Binding) 活性を測定する *in vitro* 試験法について検討し、これらの測定法により DTaP ワクチンのADP リボシル化活性および Binding 活性の測定が可能であった。

また本研究の結果からは、ワクチン中のこれらの残存百日咳毒素活性の間に相関が認められず、製造所毎の不活化処理法の違い等により A サブユニットおよび B サブユニットの不活化程度に違いが生じると考えられた。

これらの *in vitro* 試験法が精製百日せきワクチンの残存百日咳毒素活性を測定する安全性試験法として代替できれば、実験動物使用数の大幅な削減が可能となる。

#### F. 謝辞

本研究にご協力をいただいた英国 National Institute for Biological Standards and Control に深謝します。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kataoka, M., Yamamoto, A., Ochiai, M., Harashima, A., Nagata, N., Hasegawa, H., Kurata, T. and Horiuchi, Y. 2009. Comparison of acellular pertussis based combination vaccines by Japanese control tests for toxicities and laboratory models for local reaction. *Vaccine*, 27: 1881-8.

##### 2. 学会発表

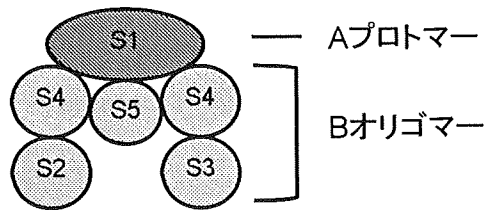
1. Yuen, C., Horiuchi, Y., Asokanathan, C., Cook, S., Douglas-Barsley, A., Ochiai, M., Corbel, M. and Xing, D. 2009. An *in vitro* biochemical assay system alternative to the *in vivo* Histamine sensitisation test for pertussis vaccines. (7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome, 2009 年 8-9 月)
2. 落合雅樹、山本明彦、片岡紀代、堀内善信、荒川宜親、2009. Development of alternative assays to the mouse histamine sensitization test for acellular pertussis vaccines. (第 13 回日本ワクチン学会学術集会、札幌、2009 年 9 月)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

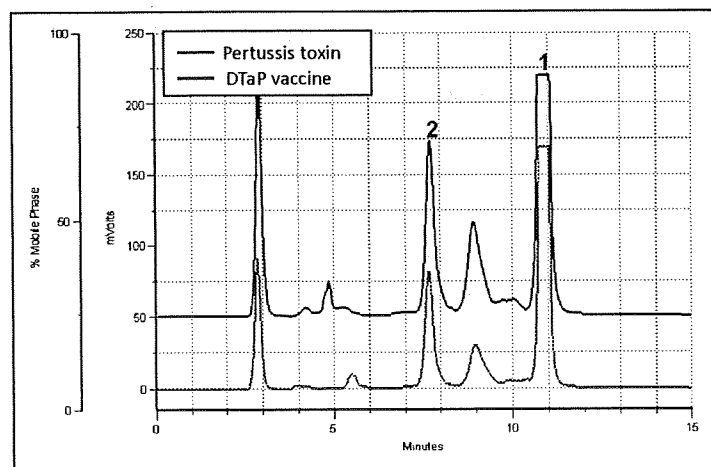
## 図1. 百日咳毒素

百日咳菌が産生するタンパク毒素(A-B毒素)で、百日咳菌の主要病原因子であると同時に、最も重要な防御抗原である

- ・ **A (active)プロトマー**: S1 サブユニット  
Gタンパク質のADPリボシル化する、様々な生物活性はこれに基づく
- ・ **B (binding)オリゴマー**: S2+S3+S4(x2)+S5 のサブユニットから構成され、細胞表層への結合に関与する



## 図2. HPLCのクロマトグラム



1. F-Gα<sub>is</sub>C20 peptide peak    2. Ribosylated product peak



図3. アルミニウムアジュバントゲルのADPリボシル化活性測定への影響

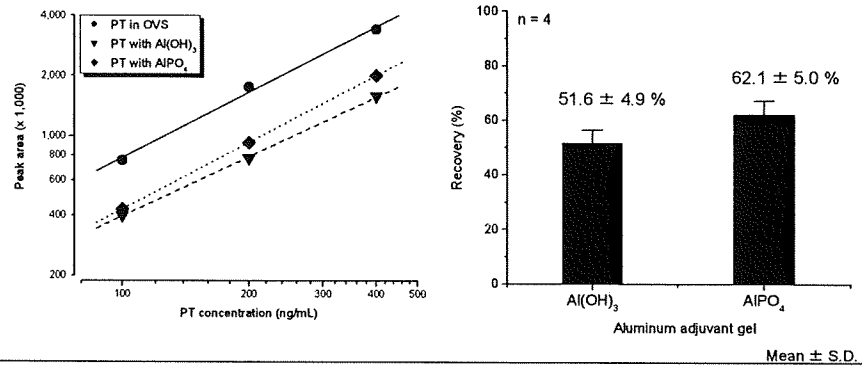
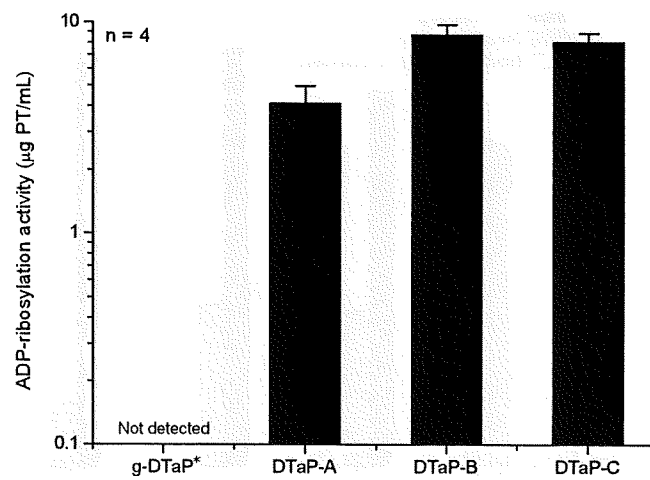


図4. ワクチン中のADPリボシル化活性



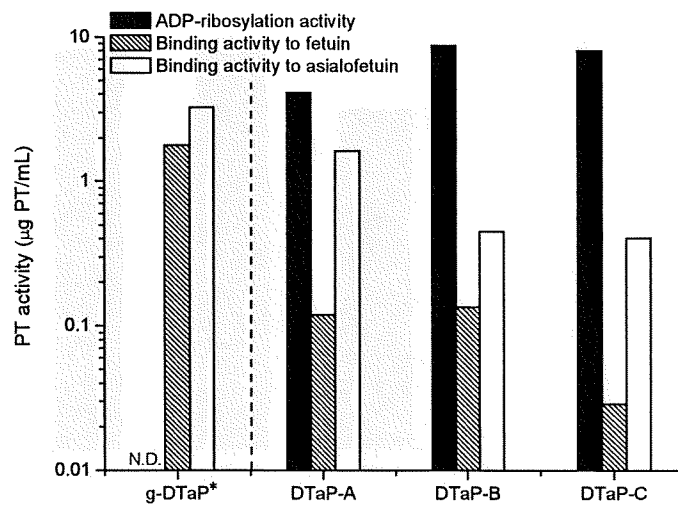
\*DTaP vaccine which included a genetically detoxified pertussis toxin (PTX-9K/129G)

表1. ワクチン中のBinding活性

Vaccine	Binding activity ( $\mu\text{g PT/mL}$ )		Proportion (%) <sup>*</sup>	Corrected activity ( $\mu\text{g PT/mL}$ ) <sup>*</sup>	
	Fetuin	Asialofetuin		Fetuin	Asialofetuin
DTaP-A	0.028	0.385	23.7	0.119	1.620
DTaP-B	0.025	0.082	18.2	0.135	0.450
DTaP-C	0.009	0.132	32.7	0.029	0.404
g-DTaP	1.782	3.239	-	-	-

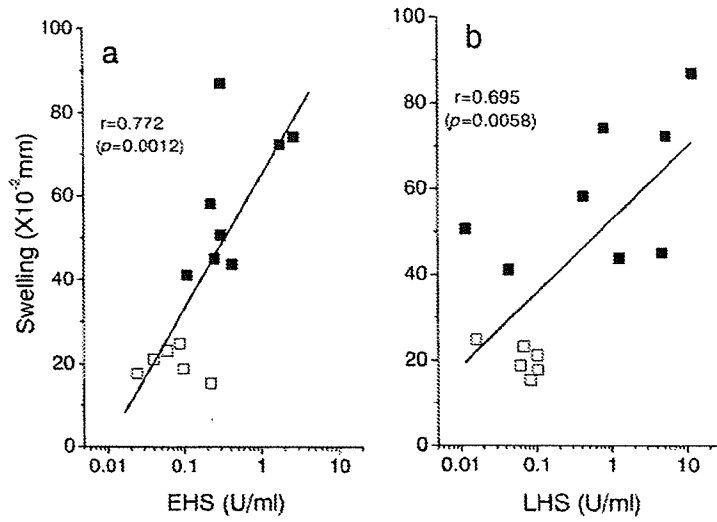
\* ADP-ribosylation activity in the supernatant after de-sorption using EDTA was used to correct the binding activity of vaccine samples

図5. ワクチン中のADPリボシル化活性及びBinding活性



\* Binding activities of the vaccine could not be corrected because of no ADP-ribosylation activity

図6. マウスモデルでの局所反応とマウスヒスタミン増感活性の相関



\* Yamamoto *et al.*, Vaccine, 20, 3088-94, 2002

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
岡部信彦・多屋馨子	予防接種に関するQ&A.	岡部信彦・多屋馨子	予防接種に関するQ&A集 2009	社団法人細菌製剤協会	東京	2009	1-125

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
多屋馨子	予防接種健康被害救済制度・予防接種後副反応・健康状況調査	小児科診療	12(21)	2241-2250	2009
多屋馨子	予防接種後副反応・健康状況調査.	母子保健情報.	59	42-48	2009
多屋馨子	世界標準にはるかに及ばないわが国の予防接種体制 麻疹・風疹混合(MR)ワクチン.	日本医師会雑誌	138(4)	681-685	2009
Kataoka, M., Yamamoto, A., Ochiai, M., Harashima, A., Nagata, N., Hasegawa, H., Kurata, T. and Horiuchi, Y.	Comparison of acellular pertussis based combination vaccines by Japanese control tests for toxicities and laboratory models for local reaction.	Vaccine	27	1881-8	2009